

# エールリツヒ腹水癌細胞内に於けるインフルエンザ AウイルスWS株の増殖 第一報:特に螢光抗体法で追 跡したウイルス増殖 第二報:抗体の細胞内ウイルス 増殖に及ぼす影響の有無に関する検討

著者	小野寺 時夫
号	217
発行年	1963
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10097/17844">http://hdl.handle.net/10097/17844</a>

氏 名 おの 小 野 寺 とき お 夫

授 与 学 位 医 学 博 士

学 位 授 与 年 月 日 昭 和 3 8 年 3 月 2 6 日

学 位 授 与 の 根 拠 法 規 学 位 規 則 第 5 条 第 1 条

研 究 科 , 専 攻 の 名 称 東 北 大 学 大 学 院 医 学 研 究 科

外 科 学 系

学 位 論 文 題 目 エールリツヒ腹水癌細胞内に於けるインフルエ  
ンザAウイルス・WS株の増殖  
第一報：特に螢光抗体法で追跡したウイルス  
増殖  
第二報：抗体の細胞内ウイルス増殖に及ぼす  
影響の有無に関する検討

指 導 教 官 東 北 大 学 教 授 桂 重 次

論 文 審 査 委 員 東 北 大 学 教 授 桂 重 次

東 北 大 学 教 授 石 田 名 香 雄

東 北 大 学 教 授 槇 哲 夫

# 論文内容要旨

## 緒 言

生化学或いは遺伝子に関連したウイルス学の長速の進歩に拘らず、動物体内に於けるウイルス増殖論については猶之等の進歩が充分応用されていないのが現状である。著者はマウスの腹腔内に単個細胞の状態で培養されているエールリツヒ腹水癌細胞(E癌)に増殖可能なインフルエンザWS変異株をえらび、かかる細胞群内に於けるウイルス増殖を感染価や細胞に対するウイルスのOncolytic effectの定量的な扱いのみならず、螢光抗体手技をもつて追究した。更にこの様な定量的な扱いの出来る場に於て、果してウイルスに対する抗体が細胞内に侵入してウイルスに影響を及ぼすか否かを検討し之を否定する結論を得た。

## 材料及び実験方法

ウイルスはインフルエンザA.WS変異株でAckermanより分与されたE癌継代株。E癌は20~30 gm dd マウスに継代し、また実験にもこの体重のマウスを使用した。免疫マウスは高力価ウイルスの腹腔内注射によつて作つた。実験手技としては次の3方法即ち1)細胞内ウイルスの感染価(EID<sub>50</sub>)の測定 2)螢光抗体法 3)ウイルスのOncolytic effect 即ち腹水細胞の絶対数の計算を主として、之等の綜合によつて結果を吟味した。

## 実 験 結 果

第一報：——担癌マウスの腹腔内に直接ウイルスを接種し、経時的にウイルス感染腹水癌細胞を採取してその細胞数の減少(Oncolytic effect)、細胞内ウイルスの感染価の測定及び螢光抗体法により抗原蓄積の推移を検索した。細胞数はウイルス感染后18時間頃より減少し始め、24時間后著明になつて48時間では最早腹水中に癌細胞を認めない迄に至る。細胞内ウイルスの感染価は感染直后6時間迄一旦急激に減少するが以后漸進的增加を示し、24時間に至つて最高値を示す。更にこのあとはOncolysisと共に減少する。S抗体及びV抗体を含むモルモット血清を用いた螢光抗体法では、ウイルス感染30分后はウイルスの細胞表

面吸着像を示し、5時間頃迄は微弱な細胞質内螢光がみられ、7時間から15時間頃迄鮮明な抗原が核及び細胞質共に分布し、細胞減少の始まる18時間には核内抗原が消失して螢光は細胞質のみにみられ、以後Oncolysisと共に細胞質内抗原も失われて行く。V抗体のみを含む家兎血清では核内抗原の蓄積は全経過に於て観察されなかつた。

第二報：——1) ウイルスで免疫したマウスにE癌を接種しても非免疫マウスに於けると同様に腹水癌が貯溜し、マウスは遂に癌死に至る。然しこのマウスの腹腔に直接ウイルスを接種してもE癌細胞は感染しない。2) 試験管内で一旦ウイルスの感染を成立させた細胞を免疫マウスの腹腔に移植すると、抗体の海の中にありながらウイルス感染細胞はやがてOncolysisに至つて消失する。即ち100%感染細胞を免疫マウスに移植すると総べての細胞がOncolysisに至つて腹水癌が貯溜しない。3) 螢光抗体法に証明されるウイルス合成経過は吸着→細胞質→核及び細胞質→放出と非免疫マウスに於けると同様である。然し非免疫マウスに於てみられるような二次感染による種々の時期の混合像はみられない。4) ウイルス感染細胞を免疫マウスに移植しておいても、細胞を適切に洗滌すると細胞内ウイルスの感染価の測定が可能となり、その増殖経過は本質的に非免疫のものと差がない。5) 免疫マウス内で増殖した癌細胞を充分洗滌すると、ウイルス感染を許すことが分つた。

## 考 按

螢光抗体法によるMyxovirus増殖の研究をみると、宿主細胞—ウイルス系によつてその増殖様式は可成り差異があるが著者の系に於いては、V及びS抗体を含むモルモット血清を使用した場合ウイルス増殖経過に細胞質のみならず核内に明瞭な抗原蓄積を認めた。一方S抗体の検出されない家兎血清を用いた場合全経過に核内抗原の蓄積はみられなかつた。

この実験系で一旦ウイルス感染の成立した細胞を免疫マウスに移植しても、抗体の作用下にありながらOncolysisも抑制されず、螢光抗原も非免疫マウスに於けると同様の蓄積経過を示すことが観察され、更に感染細胞は免疫マウス体内にあつても抗体の作用を受けることなく、完全ウイルスを合成していることを証明した。加えて免疫マウス内で増殖した細胞も遠心洗滌という簡単な操作で抗体が除かれ、ウイルスが感染することを確認した。

## 結 語

1) エールリツヒ腹水癌細胞内に於けるインフルエンザA<sub>1</sub>WS変異株の増殖を主として螢光抗体法によつて追跡した。

2) 同じ系に於て一旦ウイルス感染の成立した細胞に抗体が侵入してウイルス合成に影響するということを動物体内で明瞭に否定した。

## 審査結果の要旨

著者はマウスの腹腔内に単個細胞の状態で培養されているエールリツヒ腹水癌細胞（E癌）に増殖可能なインフルエンザWS変異株をえらび，かかる細胞群内に於けるウイルス増殖を感染価や細胞に対するウイルスのOncolytic effectの定量的な扱いのみならず，蛍光抗体手技をもつて追求している。

即ちウイルスはインフルエンザA・WS変異株でAckermannより分子されたE癌継代株でE癌は20～30 g m m d マウスに継代し，また実験にもこの体重のマウスを使用した。免疫マウスは高力価ウイルスの腹腔内注射によつて作つた。実験手技としては次の3方法即ち1）細胞内ウイルスの感染価（EID<sub>50</sub>）の測定，2）蛍光抗体法，3）ウイルスのOncolytic effect 即ち腹水細胞の絶対数の計算を主として，之等の綜合によつて結果を吟味している。

第1報では粗癌マウスの腹腔内に直接ウイルスを接種し，経時的にウイルス感染腹水癌細胞を採取してその細胞数の減少（Oncolytic effect），細胞内ウイルスの感染価の測定及び蛍光抗体法により抗原蓄積の推移を搜索した。

第2報では，1）ウイルスで免疫したマウスにE癌を接種しても非免疫マウスに於けると同様に腹水癌が貯溜し，マウスは遂に癌死に至る。然しこのマウスの腹腔に直接ウイルスを接種してもE癌細胞は感染しない。2）試験管内で一旦ウイルスの感染を成立させた細胞を免疫マウスの腹腔に移植すると，抗体の海の中にありながらウイルス感染細胞はやがてOncolysisに至つて消失する。即ち100%感染細胞を免疫マウスに移植すると総べての細胞がOncolysisに至つて腹水癌が貯溜しない。3）蛍光抗体法に証明されるウイルス合成経過は吸着→細胞質→核及び細胞質→放出と非免疫マウスに於けると同様である。然し非免疫マウスに於てみられるような二次感染による種々の時期の混合像はみられない。4）ウイルス感染細胞を免疫マウスに移植しておいても，細胞を適切に洗滌すると細胞内ウイルスの感染価の測定が可能となり，その増殖経過は本質的に非免疫のものと差がない。5）免疫マウス内で増殖した癌細胞を充分洗滌するとウイルス感染を許すことを述べている。

之によりウイルス感染の成立した細胞に抗体が侵入してウイルス合成に影響するということが動物体内で明瞭に否定することが出来た。

よつて本論文は学位を授与するに値するものと認める。